

NASKAH PUBLIKASI
UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA DAUN
KESUM (*Polygonum minus* Huds.) TERHADAP
Salmonella typhi



ESTI NUR EKASARI
NIM. 111110025

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
2014

LEMBAR PENGESAHAN

NASKAH PUBLIKASI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA DAUN KESUM
(*Polygonum minus* Huds.) TERHADAP *Salmonella typhi***

Tanggung Jawab Yuridis Material pada

ESTI NUR EKASARI

NIM 111110025

Disetujui Oleh

Pembimbing Utama



**Dr. Muhamad Agus Wibowo, M.Si
NIP. 19720109 200003 1002**

Pembimbing Kedua



**dr. lit Fitrianingrum
NIP. 19820722 200812 2002**

Penguji Pertama



**dr. Pandu Indra Bangsawan, M.Kes
NIP. 19821126 201212 1002**

Penguji Kedua



**dr. Arif Wicaksono, M.Biomed
NIP. 19831030 200812 1002**

**Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura**



**dr. Bambang Sri Nugroho, Sp. PD
NIP. 19511218 197811 1001**

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA DAUN KESUM (*Polygonum minus* Huds.) TERHADAP *Salmonella typhi*

Esti Nur Ekasari¹; Muhamad Agus Wibowo²; lit Fitrianingrum³

Intisari

Latar Belakang: Kesum (*Polygonum minus* Huds.) merupakan tanaman endemik Kalimantan Barat. Tanaman ini digunakan oleh masyarakat untuk mengobati gangguan pencernaan dari demam tifoid. Demam tifoid disebabkan oleh *Salmonella typhi*. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*, menentukan kandungan senyawa, dan menentukan konsentrasi efektif dari fraksi *n*-heksana daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. **Metodologi:** Daun kesum diekstraksi secara maserasi dengan pelarut metanol kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana. Fraksi yang diperoleh dilakukan uji skrining fitokimia dan diuji aktivitas antibakterinya dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin 5 µg/disk dan kontrol negatif yang digunakan adalah tween 20 0,8%. **Hasil:** Berdasarkan hasil skrining fitokimia, fraksi *n*-heksana mengandung senyawa steroid. Fraksi *n*-heksana daun kesum tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. **Kesimpulan:** Fraksi *n*-heksana daun kesum tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*.

Kata Kunci: Antibakteri, fraksi *n*-heksana daun kesum, *Salmonella typhi*

- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
- 2) Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA), Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
- 3) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY DETERMINATION OF n-HEXANE
FRACTION OF KESUM LEAF (*Polygonum minus* Huds.)
AGAINST *Salmonella typhi***

Esti Nur Ekasari¹; Muhamad Agus Wibowo²; lit Fitrianingrum³

Abstract

Background: Kesum (*Polygonum minus* Huds.) is an endemic plant of West Kalimantan. This plant was used by people to treat gastrointestinal disorders of typhoid fever. Typhoid fever was caused by *Salmonella typhi*. **Objective:** This research aimed to investigate the antibacterial activity of n-hexane fraction of kesum leaf against the growth of *Salmonella typhi*, the content of secondary metabolite compounds, and the effective concentration from n-hexane fraction of kesum leaf to inhibit the growth of *Salmonella typhi*. **Methodology:** Kesum leaf(ves) were extracted by maceration using methanol. The extract was fractioned using n-hexane. Its chemical compounds were determined by phytochemical screening. The fraction was tested its antibacterial activity using Kirby-Bauer Disc Diffusion. Ciprofloxacin 5 µg/disk was used as positive control and tween 20 0,8% was used as negative control. **Result:** Based on phytochemical screening, n-hexane fraction of kesum leaf(ves) contained steroid. N-hexane fraction of kesum leaf(ves) showed no antibacterial activity against the growth of *Salmonella typhi*. **Conclusion:** N-hexane fraction of kesum leaf(ves) had no antibacterial activity against the growth of *Salmonella typhi*.

Keywords: Antibacterial, n-hexane fraction of kesum leaf, *Salmonella typhi*

- 1) Medical Education Study Program, Faculty of Medicine, Universitas Tanjungpura, Pontianak, West Kalimantan
- 2) Chemical Study Program, Faculty of Mathematics and Natural Science, Universitas of Tanjungpura, Pontianak, West Kalimantan
- 3) Medical Education Study Program, Faculty of Medicine, Universitas Tanjungpura, Pontianak, West Kalimantan

PENDAHULUAN

Demam tifoid merupakan salah satu penyakit yang telah menjadi masalah kesehatan masyarakat di dunia maupun di Indonesia. Demam tifoid biasanya terjadi akibat tingkat sanitasi yang buruk. *Salmonella typhi* (*S.typhi*) merupakan penyebab terjadinya demam tifoid.¹

S.typhi merupakan salah satu bakteri yang mengalami perkembangan dalam sifat resistensi terhadap antibiotik diantaranya adalah kloramfenikol, kotrimoksazol, tetrasiklin, dan ampicilin atau dikenal sebagai Multi Drug Resistant *Salmonella typhi* (MDRST).^{2,3} Efek samping beberapa obat juga dilaporkan seperti terjadinya penekanan sumsum tulang dan anemia aplastik akibat penggunaan terus menerus kloramfenikol dan tiamfenikol serta terganggunya pertumbuhan tulang rawan anak akibat penggunaan golongan fluorokuinolon yaitu siprofloksasin.⁴

Kesum (*Polygonum minus* Huds.) merupakan tanaman khas Kalimantan Barat yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan masakan dan obat tradisional terutama untuk mengobati masalah pencernaan.⁵ Gangguan pencernaan merupakan manifestasi klinis utama demam tifoid selain demam yang berkepanjangan sehingga kesum berpotensi untuk diteliti sebagai antibakteri terhadap *S.typhi*.⁶

Penelitian mengenai kandungan kimia daun kesum menunjukkan terdapat senyawa golongan fenolik, alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan minyak atsiri.^{7,8} Senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki daya antibakteri.⁵ Infusa daun kesum memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.typhi*,⁹ sehingga peneliti bermaksud melanjutkan penelitian tersebut dengan mengganti sediaan dari infusa menjadi fraksi non-polar yaitu *n*-heksana.

Penggunaan pelarut non-polar dimaksudkan karena berdasarkan penelitian sebelumnya senyawa-senyawa metabolit sekunder pada pelarut non-polar daun kesum (golongan fenolik, terpenoid, dan steroid) dapat bersifat

sebagai antibakteri.⁵ Selain itu, pada senyawa golongan steroid daun kesum diduga terdapat senyawa β -sitosterol karena pada *Polygonum bistorta* yang berasal dari family yang sama dengan kesum (*Polygonaceae*) memiliki senyawa β -sitosterol.¹⁰ Berdasarkan penelitian sebelumnya, senyawa β -sitosterol memiliki aktivitas sebagai antibakteri.¹¹

Berdasarkan hal-hal yang telah dipaparkan sebelumnya, daun kesum berpotensi sebagai pengobatan alternatif untuk mengatasi demam tifoid. Pola kebiasaan masyarakat Indonesia yang lebih menyukai pengobatan herbal dan meningkatnya angka kejadian resistensi terhadap antibiotik dan banyaknya efek samping pengobatan membuat penelitian ini, jika terbukti efektif, akan menjadi solusi baru dalam mengobati demam tifoid.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Januari hingga bulan Juli 2014. Sampel daun kesum diperoleh dari Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Kalimantan Barat, Kebun Percobaan Sungai Kakap, Kalimantan Barat. Proses ekstraksi dan fraksinasi dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan (MIPA) Universitas Tanjungpura Pontianak. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak.

Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator (Mettler®), *vacuum rotary evaporator*, pinset (Renz®), *magnetic stirrer*, *shaker* (Wisesake®), spektrofotometer, *Hot Plate* (Kikalabortechnik®), desikator, *Biological Safety Cabinet (BSC)* (Biobase®), autoklaf (ALP®), timbangan analitik, *blender* (National®), lemari pendingin (LG®), mikropipet (Transferpette®), kamera (Canon®), termometer, Erlenmeyer 250 mL (Iwaki Pyrex®), penggaris, cawan petri (Iwaki Pyrex®), mikroskop, ayakan no.40

mesh, sendok tanduk, bejana maserasi, batang pengaduk kaca, rak tabung, spuit 1 cc, gelas beker 250 mL (Iwaki Pyrex®), tabung reaksi (Pyrex®), gelas krusibel, cawan penguap, corong kaca, gelas ukur 10 mL, 50 mL, dan 100 mL (Y2®), gunting, toples plastik besar, batang pengaduk, jarum ose, pembakar bunsen, handscoon, masker, pipet tetes, pisau *stainless*, kaca objek, kaca penutup, korek api (Tokai®), botol vial, spidol (Snowman®).

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kesum (*P.minus* Huds.), biakan murni *S.typhi*, akuades, alumunium foil, cakram kertas, kertas saring Whatman no.1, kertas sampul coklat, kain kasa, kapas, plastik tahan panas, kertas tisu, kertas label, kertas karton, *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Merck®), *Salmonella-Shigella Agar* (Pronadisa®), media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) (Pronadisa®), maltosa, sukrosa, metanol (teknis), *n*-heksana (teknis), spiritus, pereaksi Mayer, kalium iodida (KI), magnesium (Mg), asam klorida (HCL) pekat, besi (III) klorida (FeCl₃) 5%, besi (III) klorida (FeCl₃) 1%, asam asetat (CH₃COOH) glasial, H₂SO₄ pekat, kloroform (CH₃Cl), magnesium sulfat, kalium hydrogen fosfat, natrium ammonium fosfat, alkohol, pelarut *Dimethyl sulfoxide* (DMSO) 10 %, media *Nutrient Agar* (NA) (Pronadisa®), media *Nutrient Broth* (NB) (Pronadisa®), karbol kristal ungu, iodin, alkohol 70%, antiseptik (Dettol®), safranin, siprofloksasin disk 5 µg/disk, tusuk gigi, karet gelang.

Rancangan Percobaan

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Konsentrasi fraksi *n*-heksana daun kesum yang digunakan yaitu 6%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, dan 18% b/v (g/100ml). Kontrol positif adalah antibiotik siprofloksasin 5 µg/disk dan kontrol negatif *tween* 20 0,8%.

Prosedur Kerja

Pembuatan Ekstrak Metanol

Daun kesum dipotong-potong dan dikeringanginkan, kemudian dihaluskan dengan menggunakan *glinder*. Simplisia daun kesum sebanyak 1 kg kemudian dimaserasi dengan pelarut metanol selama 3×24 jam. Hasil semua maserat disaring dan diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 55°C. Ekstrak disimpan dalam wadah kaca yang dilapisi aluminium foil.

Pembuatan Fraksi *n*-Heksana

Ekstrak metanol daun kesum dilarutkan dengan metanol hingga encer dan homogen kemudian difraksinasi cair-cair (bertingkat) dengan menggunakan metanol dan *n*-heksana. Ekstraksi cair-cair dilakukan sebanyak 3 kali hingga diperoleh dua lapisan (lapisan metanol di bagian bawah dan lapisan *n*-heksana di bagian atas). Kedua lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan, dikumpulkan, dan diuapkan pelarutnya menggunakan *water bath* hingga diperoleh fraksi *n*-heksana kemudian dilakukan skrining fitokimia terhadap fraksi *n*-heksana daun kesum tersebut.

Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan Uji Fraksi *n*-Heksana Daun Kesum

Fraksi *n*-heksana daun kesum dibuat dengan konsentrasi 6%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, dan 18% b/v (g/100ml). Konsentrasi tersebut dibuat dengan cara menimbang fraksi masing-masing 60 mg, 80 mg, 100 mg, 120 mg, 140 mg, 160 mg, dan 180 mg kemudian dilarutkan masing-masing dengan *tween* 20 0,8% hingga volumenya 1 ml.

Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin 5µg/disk. Kontrol negatif *tween* 20 0,8% dibuat dengan cara memasukkan 8 µL *tween* 20 ke dalam gelas ukur, kemudian ditambahkan akuades hingga volumenya 1 mL (992 µL).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Kultur murni bakteri *S.typhi* yang telah diremajakan, disuspensikan dengan cara menginokulasikan 3 ose kultur bakteri uji dari agar miring *Nutrient Agar* (NA) ke dalam 100 mL media *Nutrient Broth* (NB), selanjutnya ditempatkan di *shaker* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 28°C. Pertumbuhan bakteri dipantau dengan cara mengukur kekeruhan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm hingga diperoleh nilai *Optical Density* (OD) sebesar $\geq 0,6$ ¹²

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana daun kesum menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer*.¹³ Sebanyak 0,1 mL suspensi bakteri *S.typhi* dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan dicampurkan dengan 15 ml media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan dihomogenkan, kemudian dibiarkan hingga memadat sampai suhu $\pm 40^\circ\text{C}$.¹⁴ Kertas saring yang direndam dalam larutan uji dan kontrol negatif *tween* 20 0,8% ditempatkan pada permukaan media yang telah memadat. Kontrol positif siprofloksasin 5 µg/disk juga diletakkan pada permukaan yang telah memadat tersebut. Jarak kertas saring antara 1 dengan yang lainnya sebesar 3 cm dan dari tepi media sebesar 2 cm.¹⁵ Media kemudian ditutup rapat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2×24 jam. Pengamatan dilakukan pada jam ke-24 dan jam ke-48.

Parameter Pengamatan

Zona hambat yang terbentuk pada jam ke-24 dan jam ke-48 diukur menggunakan jangka sorong dan diinterpretasikan kekuatan zona hambatnya.

Analisis Data

Data pengamatan pada jam ke-24 yang normal dan homogen (setelah diuji dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji *Leuvene's*) dilanjutkan dengan analisis varian satu arah (*One Way ANOVA*) untuk mengetahui ada

tidaknya pengaruh yang signifikan pemberian fraksi *n*-heksana daun kesum terhadap *S.typhi*. Jika terdapat perbedaan secara bermakna, maka dilanjutkan dengan analisis *Post-Hoc Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui perbedaan secara signifikan dari data satu kelompok perlakuan fraksi *n*-heksana daun kesum dengan kelompok lainnya.

HASIL

Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstrak metanol daun kesum didapatkan sebanyak 50 gram. Ekstrak yang dihasilkan berwarna hijau tua, kental, berbau khas dan tidak dapat dituang dalam keadaan dingin. Ekstrak yang digunakan untuk fraksinasi sebanyak 20 gram dan diperoleh fraksi sebanyak 9,22 gram.

Hasil skrining fitokimia

Hasil skrining fitokimia fraksi *n*-heksana daun kesum didapatkan adanya senyawa golongan steroid.

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia Fraksi *n*-Heksana Daun Kesum

No	Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1.	Fenol	Air panas, FeCl ₃ %	-	Tidak terbentuk warna merah, hijau atau ungu
2.	Alkaloid	Meyer, Kloroform	-	Tidak terbentuk endapan putih
3.	Flavonoid	HCl, Mg	-	Tidak terbentuk warna kuning
4.	Terpenoid	CH ₃ COOH H ₂ SO ₄ pekat	-	Tidak terbentuk warna merah
5.	Steroid	CH ₃ COOH H ₂ SO ₄ pekat	+	Terbentuk warna biru
6.	Saponin	Air	-	Tidak terbentuk buih atau busa yang bertahan minimal 10 menit
7.	Tanin	FeCl ₃ 5%	-	Tidak terbentuk warna biru tua

Sumber: Data Primer, 2014

Keterangan: +: Positif, ada kandungan senyawa

- : Negatif, tidak ada kandungan senyawa

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *n*-Heksana Daun Kesum

Uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan kontrol negatif (*tween* 20 0,8%), kontrol positif (siprofloksasin 5 µg/disk), dan variasi konsentrasi larutan uji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak memberikan zona hambat. Hal tersebut membuktikan bahwa *tween* 20 0,8% (pelarut yang digunakan untuk membuat variasi konsentrasi fraksi) tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri, sehingga aktivitas hanya berasal dari larutan uji, bukan dari pelarut yang dipakai. Kontrol positif dalam penelitian ini menunjukkan diameter zona hambat sebesar 31,13 mm. Hal ini menunjukkan bahwa siprofloksasin sebagai antibiotik masih sensitif terhadap bakteri uji yaitu *S.typhi*. Hal ini dapat diinterpretasikan sensitif apabila zona hambat yang dihasilkan ≥ 31 mm, intermediet 21-30 mm, dan resisten ≤ 20 mm.¹³ Hasil pengamatan terhadap aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana daun kesum dengan variasi konsentrasi 6%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, dan 18% terhadap *S.typhi* setelah diinkubasi selama 1×24 jam pada suhu 37°C dengan 4 kali pengulangan adalah tidak terbentuk zona hambat atau zona jernih di sekitar cakram.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *n*-Heksana Daun Kesum I

No	Konsentrasi (%)	Diameter zona hambat (mm)				Rata-rata (mm)
		Pengulangan ke-				
		I	II	III	IV	
1	6	0	0	0	0	0
2	8	0	0	0	0	0
3	10	0	0	0	0	0
4	12	0	0	0	0	0
5	14	0	0	0	0	0
6	16	0	0	0	0	0
7	18	0	0	0	0	0

Sumber: Data Primer, 2014

Keterangan: 0 = tidak ada zona hambat

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri dengan variasi konsentrasi 6%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, dan 18%, tidak didapatkan adanya zona hambat sehingga dilakukan penambahan variasi konsentrasi menjadi 20%, 30%, 40%, dan 50%. Penambahan dosis konsentrasi fraksi *n*-heksana daun

kesum ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya terbentuk zona hambat pada konsentrasi fraksi yang lebih tinggi yaitu 20%, 30%, 40%, dan 50%. Berikut hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana daun kesum dari variasi konsentrasi ini:

Tabel 2. Hasil Uji aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksana Daun Kesum II

No	Konsentrasi (%)	Diameter zona hambat (mm)				Rata-rata (mm)
		Pengulangan ke-				
		I	II	III	IV	
1	20	0	0	0	0	0
2	30	0	0	0	0	0
3	40	0	0	0	0	0
4	50	0	0	0	0	0

Sumber: Data Primer, 2014

Keterangan : 0 = tidak ada zona hambat

Pembahasan

Aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yang dibagi menjadi faktor biologis dan faktor teknis. Faktor teknis sebagian besar dapat dikendalikan oleh peneliti namun faktor biologis tidak dapat dikendalikan oleh peneliti.¹³ Brooks *et al.* (2007) juga menyatakan bahwa aktivitas antibakteri dipengaruhi beberapa faktor yaitu konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak, dan jenis bakteri yang dihambat.¹⁶

Faktor biologis terdiri atas *persisters* dan resistensi¹³. *Persisters* berasal dari sel-sel yang dorman atau bereplikasi dengan lambat sehingga tidak dapat dibunuh oleh zat antibakteri. Faktor *persisters* sudah dikendalikan dengan penggunaan inokulum pada fase logaritmik. Faktor biologis berikutnya adalah resistensi. Bakteri sangat mungkin untuk menjadi resisten selama pengujian antibakteri karena resistensi merupakan adaptasi yang dilakukan bakteri secara alami untuk tetap bertahan hidup.¹⁷ Resistensi antimikroba pada bakteri enterik sebagian besar disebabkan oleh penyebaran resistensi plasmid yang paling banyak terdapat dalam

bakteri gram negatif dan merupakan faktor mutlak yang tidak dapat dikendalikan.¹⁸

Faktor virulensi jenis bakteri yang dihambat juga dapat mempengaruhi hasil pengujian aktivitas antibakteri. Faktor virulensi bakteri menggambarkan kekuatan suatu strain dalam pertahanan terhadap paparan zat antibakteri. Struktur dan faktor virulensi *S.typhi* meliputi *siderophore*, enterotoksin, endotoksin di lapis LPS, *Antiphagochytic protein induced by oxyR*, antigen O, antigen H, antigen Vi, flagella, dan fimbriae.¹⁹ Bakteri *S.typhi* yang digunakan dalam penelitian ini diklasifikasikan oleh Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta berdasarkan jenis antigen O (rantai samping lipopolisakarida) dan H (Flagela) yang dimiliki oleh bakteri. Berdasarkan klasifikasi tersebut, bakteri *S.typhi* yang digunakan dalam penelitian ini memiliki antigen H yang terdapat pada flagella dan berfungsi sebagai antifagositik. Melalui flagel yang dimiliki oleh bakteri *S.typhi* memungkinkan bakteri memiliki motilitas sehingga bakteri dapat menyebar dan memperbanyak diri dalam lingkungannya.¹⁶ Berdasarkan komponen penyusun dinding selnya, bakteri gram negatif memiliki struktur yang lebih kompleks dari bakteri gram positif sehingga lebih sulit untuk dihambat oleh senyawa antibakteri dibandingkan dengan bakteri gram positif.¹⁹ Faktor-faktor virulensi yang terdapat pada bakteri *S.typhi* ini membuat bakteri tersebut mampu bertahan di tubuh, terhindar dari perlawanan sistem imun, dan menyebabkan berbagai penyakit.¹⁶ Virulensi bakteri uji yang digunakan juga dapat dipertimbangkan sebagai salah satu faktor yang mempengaruhi tidak terbentuknya zona hambat di sekitar cakram kertas yang berisi variasi konsentrasi larutan uji.

Faktor teknis terdiri atas fase pertumbuhan, besar inokulum, pH, lama inkubasi, suhu lingkungan, dan medium yang digunakan. Berdasarkan nilai *Optical Density* (OD) yang diukur saat pembuatan suspensi bakteri uji yaitu 0,604 ($OD \geq 0,6$) menunjukkan bahwa inokulum bakteri uji yang digunakan berada pada fase pertumbuhan yaitu fase logaritmik atau eksponensial dan

sesuai dengan standar bakteri yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.^{12,13}

Medium yang digunakan untuk pengujian dengan metode difusi cakram *Kirby-Bauer* adalah medium MHA.¹³ MHA dapat menyediakan difusi bebas zat antimikroba dalam cakram kertas. pH media untuk pertumbuhan bakteri uji pada penelitian ini telah dikendalikan yaitu pada rentang pH 7,2-7,4. Suhu inkubasi juga berada dalam rentang suhu optimum untuk *S.typhi* yaitu 37°C. Cakram kertas yang digunakan adalah kertas saring Whatmann no 1 yang sesuai dengan cakram kertas standar *World Health Organization* (WHO). Waktu inkubasi pada penelitian ini adalah 24 jam yang merupakan waktu inkubasi yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri yang optimal. Waktu inkubasi memungkinkan mutan resisten timbul atau anggota populasi antimikroba yang kurang rentan mulai memperbanyak diri seiring dengan berkurangnya obat. Semua faktor teknis dalam penelitian ini dapat dikendalikan.¹⁶

Salah satu faktor yang menyebabkan metabolit sekunder lain yang dapat tersari yaitu terpenoid dan fenolik menurut penelitian yang dilakukan oleh Wibowo (2009) tidak dapat tersari dalam penelitian ini adalah perbedaan tempat tanaman tersebut tumbuh sehingga nutrisi yang didapat masing-masing tanaman pun berbeda.⁸ Penyarian senyawa dengan cara fraksinasi hingga dilakukan peningkatan konsentrasi hingga 50% pada penelitian ini tidak cukup efektif untuk mendapatkan konsentrasi steroid yang dapat menghambat pertumbuhan *S.typhi*. Penyarian dengan menggunakan fraksi *n*-heksana (fraksi non-polar) pada penelitian ini tidak dapat menyari senyawa lainnya yang dapat bekerja secara sinergis bersama steroid untuk menghasilkan efek antibakteri yang kuat terhadap *S.typhi*. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Krismasari (2013) bahwa pada penyarian menggunakan infusa daun kesum dapat menyari senyawa-senyawa yaitu fenolik, flavonoid, terpenoid, dan tanin yang diduga bekerja secara sinergis dalam menghambat pertumbuhan *S.typhi*.²⁰

Steroid telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri dengan cara berinteraksi dengan membran sel.²¹ Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel sehingga menyebabkan integritas membran sel menurun, morfologi membran sel berubah dan akhirnya dapat menyebabkan membran sel rapuh dan akhirnya lisis.²² Aktivitas antibakteri dari steroid diduga melibatkan interaksi intramolekular melalui ion Mg^{2+} dan Ca^{2+} yang ada di membran sel yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas membran luar pada bakteri gram negatif termasuk bakterisidal atau peningkatan permeabilitas protein. Aktivitas antibakteri dari steroid diduga melalui interaksi dengan ion Mg^{2+} dan Ca^{2+} yang ada di membran sel yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas membran luar pada bakteri gram negatif. Interaksi gugus amino pada steroid dengan lipid A pada bakteri gram negatif juga berkontribusi dalam meningkatkan permeabilitas membran luar dan menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif. Apabila struktur tersebut rusak maka akan mengganggu permeabilitas dari lipopolisakarida tersebut. Cincin *dihidropirimidine* juga dapat berinteraksi dengan substansi selular yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Aktivitas antibakteri dari beberapa turunan steroid terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.typhi*.²³

Beberapa faktor seperti kemampuan resistensi bakteri *S.typhi*, faktor-faktor virulensi yang dimiliki bakteri *S.typhi* dan efek senyawa steroid yang tidak adekuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.typhi* seperti yang telah dipaparkan sebelumnya adalah kemungkinan-kemungkinan yang dapat mempengaruhi hasil dari penelitian ini yaitu tidak ditemukannya aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana daun kesum (*P.minus* Huds.) terhadap *S.typhi*.

Kesimpulan dan Saran

Fraksi *n*-heksana daun kesum tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S.typhi*. Berdasarkan faktor-faktor virulensi bakteri uji yang cukup kuat pada penelitian ini, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut

menggunakan fraksi non-polar (*n*-heksana) daun terhadap bakteri gram negatif lainnya dan bakteri gram positif yang memiliki virulensi yang lebih lemah dari bakteri *S.typhi*. Isolasi senyawa yang terkandung dalam fraksi *n*-heksana daun kesum perlu dilakukan untuk mencari senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.typhi* serta perlu dilakukan penggantian pelarut selain *n*-heksana pada daun kesum terhadap bakteri *S.typhi*.

Daftar Pustaka

1. Rakhman, A.; Humardewayanti, R.; Pramono, D. Faktor-Faktor Risiko yang Berpengaruh terhadap Kejadian Demam Tifoid pada Orang Dewasa, *Berita Kedokteran Masyarakat*. 2009, 25: 167-175.
2. Musnelina, L.; Afdhal, A.F.; Gani, A.; Andayani, P. Analisis Efektifitas Biaya Pengobatan Demam Tifoid Anak Menggunakan Kloramfenikol dan Seftriakson di Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002, *Makara Kesehatan*, 2004, 8(2): 59-64.
3. Yenny; Herwana, E. Resistensi dari Bakteri Enterik. Aspek Global terhadap Antimikroba, *Universa Medicina*. 2004, 26(1): 46-56.
4. Adisasmito, A.W.; Penggunaan Antibiotik pada Terapi Demam Tifoid Anak di RSAB Harapan kita, *Sari Pediatri*, 2006, 8(3): 174-180.
5. Wibowo, M.A. Uji Antimikroba Fraksi Metanol dan Dietil Eter Daun Tanaman Kesum (*Polygonum minus*), *Agripura*. 2007,3(2): 410-414.
6. Kurniawan, H. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds) terhadap Larva *Artemia salina* Leach Larvae Using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), (Publikasi). *Universitas Tanjungpura, Fakultas Kedokteran*, 2011.
7. Qader, S.W.; Mahmood A.A.; Lee S.C.; Salehuddin H. Potential Bioactive Property of *Polygonum minus* Huds. (Kesum), *Scientific Research and Essays*, 2012, 7(2): 90-93.
8. Wibowo, M.A.; Anwari MS.; Aulanni'am.; Rahman F. Skrining Fitokimia Fraksi Metanol, Dietil Asetat dan N-Heksana Ekstrak Daun Kesum

- (*Polygonum minus*). *Jurnal Penelitian Universitas Tanjungpura*. 2009, 16(4): 54-60.
9. Krismasari, D.Y. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) Terhadap *Salmonella typhi*. (Skripsi). *Universitas Tanjungpura, Fakultas Kedokteran, Pontianak*. 2013.
 10. Manoharan K.P.D.; Yang, A.; Hsu, B.T.; Huat. Evaluation of *Polygonum bistorta* for anticancer potential using selected cancer cell lines., *Med Chem*, 2007, 3(2): 121-126
 11. Teponno, R.B.; Tapondjou A.L.; Mansour E.A.; Evans H.S.; Tane P.; Barboni L. Bafoudiosbulbins A and B, Two Anti-Salmonellal Clerodane Diterpenoids From *Dioscorea bulbifera* L.var sativa, *Phytochemistry* 67, issue 17. 2006.
 12. Khotimah, S. Profil Protein Total Bakteri Starin LKS-08 Pereduksi Chromium (VI) yang Diisolasi dari Limbah Penyamakan Kulit. (Tesis). *Universitas Gadjah Mada, Fakultas Ilmu Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Yogyakarta*. 2003.
 13. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement, *Clinical and Laboratory Standard Institue*. 2013.
 14. Madigan, M.T.; Martinko, J.M. Brock Biology of Microorganism. Edisi ke-11, Pearson, Education, *Upper Saddle River, USA*. 2006.
 15. Waluyo, L. Mikrobiologi Umum. Edisi Revisi, UPT, Penerbit *Universitas Muhammadiyah Malang, Malang*. 2007.
 16. Brooks, G.F.; Butel, J.S.; Morse, S.A. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, dan Adelberg, Edisi ke-23, Hartanto, H.(alih bahasa), Elferia, R. N.(ed), *EGC, Jakarta*. 2007.
 17. Choffnes E.R.; David A.R.; and Alison M. Antibiotic Resistance, *The National Academic Press*.
 18. Jawetz and Melnick A. Mikrobiologi Kedokteran, Edisi ke-23, *EGC, Jakarta*. 2008.

19. Peleazar M.J.; and Chan, E.C.S. Dasar-Dasar Mikrobiologi (I), *UI Press*, Jakarta. 2006.
20. Krismasari, D.Y. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) Terhadap *Salmonella typhi*, *Universitas Tanjungpura, Fakultas Kedokteran*, Pontianak, (Skripsi). 2013.
21. Shihabudeen, M.S; Priscilla, D.; and Thirumurugan, K. Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Selected Indian Folk Medicinal Plants, *IJPSR*, 1(10):430-434.2010.
22. Bangham, A.D.; and Horne, R.W. *Action of Saponins on Biological Cell Membrane*, *Nature*, 196: 952-953. 2006.
23. Valvere, F.; Cedillo, D.; Ramos, L.; Cervera, G.; Gomez, P.; Cutz, T. Antibacterial Activity Induced by Several Steroid Derivaties Against *E. coli*, *S. Typhi*, *K. pneumoniae* and *S. aureus*, *Elixir Bio Tech.*, 40:5452-5455. 2011.

LAMPIRAN

Surat Keterangan Lolos Kaji Etik



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
FAKULTAS KEDOKTERAN**

Jalan Prof. Dr. H. Hadari Nawawi Pontianak 78124
Telp (0561) 765342, 583865, 732500 Fax (0561) 765342, 583865, 732500 Kotak Pos 1049
e-mail : kedokteran@untan.ac.id website : <http://www.fk.untan.ac.id>

No. : 564 /UN22.9/DT/2014
Hal : Keterangan Lolos Kaji Etik

5 Maret 2014

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
ETHICAL – CLEARANCE

Divisi Kaji Etik Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dalam upaya melindungi kesejahteraan hewan coba subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian berjudul :

Ethical Clearance Division of the Faculty of Medicine University of Tanjungpura, with regards of the animal welfare in medical and health research, has carefully reviewed the proposal entitled:

Uji Aktifitas Antibakteri Fraksi n-Heksana Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) Terhadap *Salmonella typhi*

Peneliti utama : **Esti Nur Ekasari**
Principal researcher **I11110025**

Nama institusi : **Program Studi Pendidikan Dokter**
Institution **Fakultas Kedokteran Untan**

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut di atas.
and approved the mentioned proposal.

Mengetahui,
Kepala
Chief

dr. Heru Fajar Trianto, M.Biomed
NIP. 19841013 200912 1 005

Pengkaji
Reviewer

dr. Didiek Pangestu Hadi
NIP. 1982 1224 2009 12 1 003

**Ethical-clearance berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan*